Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
17(5):263-268, setembro-outubro, 1975

CDU 616—002.21
616.995.121

APLICACIÓN DE LA INMUNOELECTROFORESIS AL DIAGNÓSTICO DE LA HIDATIDOSIS PULMONAR EN CHILE

Luís A. YARZÁBAL (1), Clara RETAMAL, Ricardo SEPÚLVEDA, J. GUACHALLA y Clara KIGUEL

RESUMEN

Se aplicó la inmunoelectroforesis, con antígeno hidático de origen ovino, al estudio de 135 pacientes admitidos en el Hospital del Tórax de Santiago (Chile) con el diagnóstico presuntivo de hidatidosis pulmonar. En 71 de esos pacientes se confirmó quirúrgicamente la existencia de uno o más quistes hidáticos pulmonares. La inmunoelectroforesis resultó positiva en el 77.4% (55) de los casos confirmados, y negativa en el 22.5% restante (16). La sensibilidad de la prueba fue de 95.0% en los enfermos portadores de quistes recientemente rotos, de 86.6% en los que tenían restos parasitarios y de 47.6% en los que albergaban quistes hialinos. Entre los otros 64 pacientes, afectados por carcinoma broncogénico, tuberculosis, neumopatías agudas bacterianas, aspergilosis o bronquiectasias, no se observó ninguna reacción positiva. La prueba dió resultados negativos con los sueros de 50 donantes de sangre. Se recomienda el empleo sistemático de la IEF, asociada a otras pruebas serológicas, en el diagnóstico de la hidatidosis pulmonar.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el parasitismo del hombre por el estadio larvario de *Echinococcus granulosus* constituye un importante problema de Salud Pública en Chile. La hidatidosis alcanza en este país una prevalencia de 210 casos por 100.000 habitantes [7] y una incidencia clínica superior a los 700 casos por año [6].

Para el diagnóstico de la enfermedad hidática humana se emplean habitualmente en el país, además de la información clínica, métodos radiológicos, centellográficos e inmunológicos (reacción intradérmica y prueba de hemaglutinación indirecta [1]). Pese a ello la frecuencia conque se encuentran quistes hidáticos en autopsias indica que sólo se está diagnosticando en vida un 33.7% de los casos humanos de la zoonosis [7]. En ese tercio de individuos parasitados, la localización más frecuente es la pulmonar, correspondiéndole a ella el 44% de las observaciones [6]. El diagnóstico de esta forma de hidatidosis se efectúa casi exclusivamente en base a la historia clínica y a los datos radiológicos; los neumólogos y cirujanos de tórax no confían en la especificidad de las pruebas inmunológicas empleadas habitualmente debido a que, tanto la reacción intradérmica (RID) como la hemaglutinación indirecta (HAI), dan origen a resultados positivos "falsos" justamente en pacientes que plantean problemas de diagnóstico diferencial al estar afectados por enfermedades que simulan algunas formas de hidatidosis (carcinoma broncogénico, tuberculosis, etc.).

Esta reactividad inespecífica de las pruebas serológicas clásicas (se observa también en la reacción de fijación del complemento, en la aglutinación de partículas inertes, y en la técnica de inmunofluorescencia) ha estimulado en los últimos años la aplicación de la inmunoelectroforesis (IEF) al diagnóstico de la hidatidosis. La técnica en cues-

Trabajo cooperativo entre el Hospital de Tórax de Santiago y el Instituto Bacteriológico de Chile
(1) Dirección actual: Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire — U.E.R. de Médecine — 59000 LILLE (France)

tión, adaptada para el estudio de la zoonosis en 1967 por CAPRON et al.[2], ha sido evaluada como procedimiento de diagnóstico por varios investigadores, habiéndose demostrado que no da origen a resultados positivos "falsos" cuando se usa la identificación de un sistema precipitante característico ("arco 5") como criterio de positividad[2, 3, 5, 10]. LARAKI et al.[4] la emplearon en el estudio inmunológico de 90 enfermos de Marruecos con quistes pulmonares, observando una sensibilidad de 70% y una especificidad absoluta.

Recientemente la IEF ha sido empleada en el Uruguay[11] para el estudio preoperatorio de 111 pacientes con hidatidosis pulmonar confirmada quirúrgicamente, dando lugar a la formación del arco de precipitación específico en 75 de ellos, lo que permitió establecer un diagnóstico positivo certero y oportuno en el 67.5% de los casos.

Ante la situación que venimos de describir, hemos considerado de interés aplicar la IEF al diagnóstico de la hidatidosis pulmonar en Chile, puesto que, de confirmarse los hallazgos anteriores, sería recomendable emplear rutinariamente la prueba para el inmunodiagnóstico de la parasitosis. En esta comunicación daremos a conocer los primeros resultados obtenidos.

MATERIALES Y METODOS

Los 135 pacientes seleccionados para este estudio fueron admitidos en el Hospital del Tórax (Santiago, Chile) entre el 10 de agosto de 1972 y el 10 de agosto de 1973. Todos presentaban antecedentes clínicos, así como signos físicos y radiológicos, compatibles con el diagnóstico presuntivo de hidatidosis pulmonar. Se extrajo a cada uno 20 ml de sangre venosa separando el suero mediante centrifugación. La muestra fue almacenada à −20°C hasta la realización de la prueba inmunológica. El diagnóstico se confirmó mediante cirurgía en los casos de hidatidosis y carcinoma; mediante estudio microbiológico en los casos de tuberculosis y de neumopatías agudas bacterianas; mediante pruebas inmunológicas y examen micológico en los casos de aspergilosis; y en base a la evolución clínico-radiológica en los casos con bronquiectasias.

De acuerdo con criterios establecidos en trabajos anteriores[6, 10], se tomaron en cuenta los hallazgos quirúrgicos y los antecedentes clínico-radiológicos para clasificar a los pacientes de hidatidosis, procurando agruparlos en portadores de: I) quistes hialinos (cuando las membranas parasitarias se encontraron intactas en el momento de la cirurgía, y el líquido quístico era claro y transparente); II) quistes recientemente rotos (cuando las membranas aparecieron rotas en el acto quirúrgico, y la anamnesis permitía ubicar la rotura dentro de los 6 meses que precedían a la extracción de sangre); III) restos parasitarios (cuando, hallándose las membranas parasitarias rotas, la efracción era ubicada mas allá de 6 meses antes de la extracción de la muestra, o cuando el quiste presentaba calcificación masiva); IV) quistes infectados (cuando se observó supuración entre la hidátide y la adventicia quística, y/o turbidez del líquido parasitario, sin alteración evidente de las membranas larvarias).

No se observó ningún caso clasificable en el grupo (IV). La localización hepática inaparente se descartó mediante centellograma en 50 de los 71 pacientes de hidatidosis. Se usó como antígeno una mezcla de líquidos hidáticos extraídos de quistes pulmonares y hepáticos de ovinos naturalmente infectados. El extracto fue preparado y padronizado por VARELA-DIAZ et al.[9] en el Centro Panamericano de Zoonosis (Buenos Aires, Argentina). El análisis inmunoelectroforético del antígeno obtenido demostró que contenía un mínimo de 14 fracciones antigénicas estrictamente parasitarias, incluyendo a las responsables de la formación del "arco 5".

La inmunoelectroforesis se practicó en láminas de 75 x 25 mm, empleando agarosa al 0.9% como soporte y un sistema tampón de veronal a pH 8.2 según lo preconizado por CAPRON et al.[2]. El antígeno liofilizado, a una concentración de 200 mg/ml fue sometido a migración electroforética durante una hora y media, luego de lo cual se facilitó la difusión de las muestras de suero previamente concentradas a 1/3 mediante liofilización.

RESULTADOS

En 71 de los 135 pacientes estudiados, se confirmó quirúrgicamente el diagnóstico de hidatidosis pulmonar. Entre ellos había 45 hombres y 26 mujeres; sus edades fluctuaron entre 8 y 61 años de edad.

El "arco 5" se formó con el suero de 55 (77.4%) de los pacientes hidáticos. Una lámina representativa se muestra en la Fig. 1. La muestras de suero de los otros 12 enfermos en quienes la parasitosis fue también confirmada, no reaccionaron en la prueba de IEF. El mayor porcentaje de positividad (95.0%) se produjo en el grupo de sueros obtenidos de individuos portadores de quistes recientemente rotos (Tabla I), en tanto que los afectados por quistes hialinos exhibieron una reactividad menor (47.6%).

Los sueros de los pacientes con carcinoma broncogénico, tuberculosis, neumopatías agudas bacterianas, bronquiectasias o aspergilosis, no reaccionaron frente al antígeno hidático (Tabla II). Lo mismo occurió con las muestras (50) extraídas de donantes sanos de un banco de sangre.

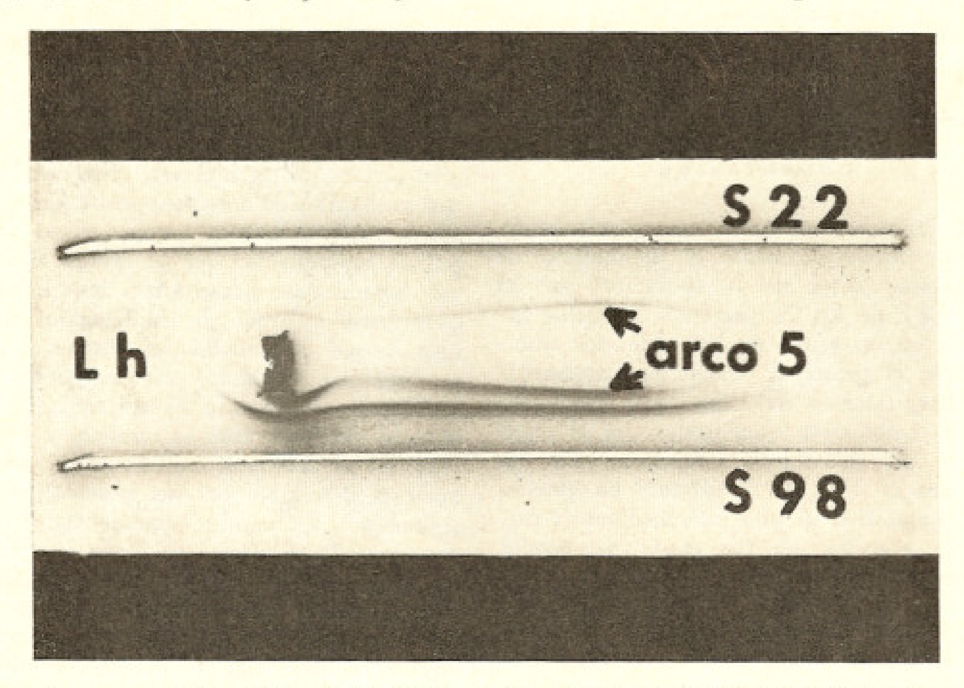


Fig. 1 — Análisis inmunoelectroforético de los sueros de dos pacientes de la serie (S_{22} y S_{98}) frente al extracto antigénico de liquido hidático ovino (Lh). Cátodo e la izquierda del lector.

TABLA I

Resultados de la inmunoelectroforesis en 71 casos de hidatidosis pulmonar

Clasificación de los quistes	N.º de casos	Positivos	%	Negativos	%
Hialinos	21	10	47.6	11	52.3
Recientemente rotos	20	19	95.0	1	5.0
Restos parasitarios	30	26	86.6	4	13.3
Total	71	55	77.4	16	22.5

TABLA II

Resultados de la inmunoelectroforesis en individuos con hidatidosis pulmonar o con otras afecciones

Afecciones	Número de casos	Positivos	Negativos
Hidatidosis	71	55	16
Carcinoma broncogénico	22	0	22
Tuberculosis pulmonar	13	0	13
Neumopatias agudas bacterianas	12	0	12
Aspergilosis	10	0	10
Bronquiectasias	7	0	7
Total	135	55	80

COMENTARIOS

La inmunoelectroforesis ha permitido establecer inequívocamente el diagnóstico de hidatidosis, antes de la operación, en 55 (77.4%) de los 71 pacientes hidáticos incluídos en un grupo de 135 enfermos admitidos en el principal Centro de Enfermedades Respiratorias de Chile, por sindromes clínico-radiológicos compatibles con el diagnóstico de hidatidosis pulmonar. En los restantes 16 (22.5%) enfermos en quienes este diagnóstico se confirmó mediante cirurgía, la reacción no fue capaz de revelar anticuerpos de valor diagnóstico.

La prueba no originó ningún resultado positivo "falso" en pacientes con enfermedades torácicas que plantean a menudo problemas de diagnóstico diferencial con la hidatidosis como el carcinoma broncogénico, la tuberculosis pulmonar, y algunas formas de bronquiectasias y aspergilosis del aparato respiratorio.

La correlación de la reactividad serológica con el estado de los quistes confirmó que la respuesta inmune humoral está estrechamente relacionada con el estado físico de las membranas hidáticas. Así, la prueba reveló anticuerpos característicos en el 95.0% de los pacientes portadores de quistes recientemente rotos, mientras que sólo resultó positiva en el 47.6% de los individuos que albergaban quistes hialinos. Este fenómeno, que ya había sido observado en trabajos anteriores [3, 8, 11], induce a sostener como verosímil la hipótesis de que el estado físico de las membranas parasitarias determina en gran parte el grado de estimulación antigénica a que es sometido el sistema inmune del huésped. Cuando esas membranas están íntegras, la salida de sustancias antigénicas desde el parásito es mínima, y no provoca en el huésped una respuesta inmune humoral detectable por las pruebas de precipitación. En cambio cuando esa barrera desaparece por efracción (como sucede en los quistes rotos), o disminuye su eficacia por alteraciones funcionales (como ocurre en los infectados) el impacto inmunológico debido a la liberación de mayores cantidades de antígenos, origina una respuesta inmune humoral evidenciable por las pruebas de inmunoprecipitación. Después de la rotura o de la extirpación quirúrgica, si no hay otro quiste que actúe como fuente de antígeno, esta respuesta se va estinguiendo, lo que explica la reactividad intermedia encontrada en el grupo de pacientes portadores de restos parasitarios, y la negativización de las pruebas serológicas què se ha comprobado en el período postoperatorio alejado [3]. El alto porcentaje de positividad observado en este trabajo entre los pacientes portadores de restos parasitarios (86.6%) se explica porque los 26 reactivos fueron estudiados antes

de transcurrir 12 meses a partir del episodio de rotura quística.

Los datos proporcionados por este estudio vienen a confirmar que la IEF está libre de la reactividad inespecífica observada en las otras pruebas serológicas que se emplean para el diagnóstico de la hidatidosis. Por otra parte la sensibilidad de la prueba (77.4%) es satisfactoria, aunque resultó negativa en un porcentaje no despreciable de casos confirmados (22.5%). Esto hace que una IEF positiva para hidatidosis pueda ser considerada como verdadera confirmación del diagnóstico, en tanto que un resultado negativo de la prueba no descarta la parasitosis. Empero, como el mayor índice de negatividad serológica se encuentra en el grupo de pacientes con quistes hialinos, que son los que se diagnostican con más seguridad en base a las imágenes radiológicas [4], la limitación subrayada no reduce significativamente la utilidad de la prueba.

Por todo lo expuesto resulta pues recomendable la incorporación de la IEF al conjunto de pruebas habitualmente empleadas en el diagnóstico preoperatorio de la hidatidosis pulmonar. Esto no significa dejar de lado o subestimar otros procedimientos de inmunodiagnóstico probadamente eficaces como la HAI y la inmunofluorescencia. Por el contrario, la experiencia reunida hasta el momento actual, ha puesto en evidencia que el empleo simultáneo de varias pruebas serológicas aumenta la sensibilidad del inmunodiagnóstico [3, 5].

En base a esa experiencia y la gran especificidad de la IEF creemos que la asociación de ésta con una o más técnicas serológicas provocará un mejor rendimiento en el inmunodiagnóstico de la hidatidosis pulmonar.

En otro orden de cosas, al lograr los resultados que hemos comentado mediante el empleo de antígenos de origen ovino, se ha aportado nueva evidencia en apoyo de la utilidad diagnóstica de ese material. Este hecho resulta particularmente importante para los laboratorios de diagnóstico y/o investigación situados en América Latina, puesto que en esta región es difícil obtener líquido hidático de origen equino, que aparece como el antígeno mas recomendable de acuerdo a las observaciones de CAPRON et al. [2, 3].

SUMMARY

The immunoelectrophoresis analysis in the diagnosis of pulmonary human hydatidosis in Chile

Immunoelectrophoresis was applied in the study of 135 patients in the Chilean Hospital for Chest Disease who had a probable diagnosis of pulmonary hydatidosis. This diagnosis was surgically confirmed in 71 of the patients.

Immunoelectrophoresis was positive in 77.4% (55) of the cases with surgical confirmation, and negative in the remaining 22.5% (16), for the presence of "arc number 5".

The test was sensitive in 95.0% of those patients with recently ruptured cysts, 86.6% of those with parasitic debris, and 47.6% of those who had hyaline cysts, respectively.

There was no positive reaction among the other 64 patients who suffered from various pulmonary diseases such as bronchogenic carcinoma, tuberculosis, other bacterial infections, aspergillosis or bronchectasis. The test was negative in 50 blood donors.

We recommend the routine use of the immunoelectrophoretic test along with other serological procedures, in the diagnosis of pulmonary hydatidosis.

REFERENCIAS

1. APT, W. & KNIERIM, F. — An evaluation of diagnostic tests for hydatid disease. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **19**:943-946, 1970.

2. CAPRON, A.; VERNES, A. & BIGUET, J. — Le diagnostic immunoélectrophorétique de l'hydatidose. "Le kyste hydatique du foie". Journées lyonnaises d'Hydatidologie SIMEP, Ed. pp. 27-40, 1967.

3. CAPRON, A.; YARZÁBAL, L. A.; VERNES, A. & FRUIT, J. — Le diagnostic immunologique de l'échinococcose humaine (Bilan

personnel à propos de 400 observations). *Path. et Biol.* **18**:357-365, 1970.

4. LARAKI, A.; BARTAL, M.; GALINDO, R.; SEBTI, Mme.; CAPRON, A.; VERNES, A. & LEFEBVRE, M. N. — Place des réactions immunologiques dans le diagnostic de l'hydatidose pulmonaire. *Ann. Med. Chir. d'Avicenne* **2**:53-67, 1971.

5. QUILICI, M.; ASSADOURIAN, Y. & RANQUE, Ph. — Le diagnostic immunologique de l'hydatidose (étude de la valeur comparée de cinq techniques sérologiques). *Med. Trop.* **31**:207-213, 1971.

6. RAMIREZ, Q. — Algunos aspectos bioestadísticos de la hidatidosis humana en Chile. *Bol. Chil. Parasit.* **26**:84-88, 1971.

7. SCHENONE, H.; ROJAS, A. & RAMIREZ, R. — Frecuencia de hidatidosis en autopsias efectuadas en el Instituto de Medicina Legal y 8 Hospitales de Santiago, Chile (1947-1970). *Bol. Chil. Parasit.* **26**:98-103, 1971.

8. TORRES, J. M.; GUISANTES, J.; ALVAREZ, I. & YARZÁBAL, L. A. — Contribución de la electrosinéresis al diagnóstico inmunológico de la hidatidosis. *Bol. Of. San. Panam.* **75**:119-126, 1973.

9. VARELA-DÍAZ, V. M.; COLTORTI, E. A.; RICARDES, M. I.; GUISANTES, J. & YARZÁBAL, L. A. — Immunoelectrophoretic characterization of sheep hydatid cyst fluid. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1974, en prensa.

10. YARZÁBAL, L. A. & CAPRON, A. — Aportes de la inmunoelectroforesis al diagnóstico inmunológico de la hidatidosis. *El Torax* (Montevideo) **20**:168-1974, 1971.

11. YARZÁBAL, L. A.; LEITON, J. & LOPEZ-LEMES, M. H. — The diagnosis of pulmonary human hydatidosis by the immunoelectrophoresis test. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **23**:662-666, 1974.

Recebido para publicação em 11/9/1974.